





دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر

دانشکده پزشکی

پایان نامه دوره دکترای حرفه‌ای پزشکی

عنوان

مقایسه تاثیر شروع آنتاگونیست GnRH در فاز فولیکولار به صورت کوتاه مدت با پروتکل آنتاگونیست GnRH به صورت ثابت در سیکل آی وی اف در بیماران نابارور

دانشجو: زهره زمانی

اساتید راهنما

دکتر الهام رحمانی و دکتر شهناز احمدی

استاد مشاور آمار

دکتر نیلوفر معتمد

این طرح با تصویب و حمایت مالی حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر اجرا گردیده است.

شهریور ۹۳

تقدیم بہ

ساحت مقدس حضرت فاطمہ

معصومہ (سلام اللہ علیہ)

ماحصل آموخته‌هایم را تقدیم می‌کنم به آنان که مهر آسمانی شان آرام

بخش آلام زمینی ام است

به استوارترین تکیه گاهم، دستان پر مهر پدرم

به سبزترین نگاه زندگیم، چشمان سبز مادرم

که هرچه آموختم در مکتب عشق شما آموختم و هرچه بگو شتم قطره‌ای از

دریای بی‌کران مهربانیتان را سپاس نتوانم بگویم

!

تقدیم به همسر عزیزم

که سایه مهربانش سایه سار زندگیم می باشد، او که اسوه صبر و تحمل بوده و
مشکلات مسیر را برایم تسهیل نمود

تقدیم به خواهر و برادرانم

که وجودشان شادی بخش و صفایشان مایه آرامش من است

تشکر و قدردانی

سپاس بی انتها خالق یکتا را که هر چه دارم از اوست.

اکنون که این پایان نامه به پایان رسیده است، بر خود لازم می دانم تا از الطاف بی دریغ استاد گرانقدرم سرکار خانم دکتر رحمانی که همواره با صبر و حوصله فراوان راهنما و یاریگر من بوده اند و با راهنمایی های ارزنده، تلاش ها و کمک های مستمر خود اینجانب را یاری نموده اند کمال تشکر و قدردانی را به عمل آورم.

همچنین از استاتید بزرگوارم، سرکار خانم دکتر احمدی و سرکار خانم دکتر معتمد، که در به ثمر رساندن این پایان نامه زحمات فراوانی را متقبل شدند سپاسگزارم.

از معلمان بزرگ زندگیم، پدر عزیز و مادر مهربانم که همانا بهترین اساتید و دوستان من در طول زندگی بوده اند بی نهایت سپاسگزارم.

از همسر عزیزم بواسطه همراهی ها و یاری هایش در طول تحصیل و همچنین تدوین پایان نامه کمال تشکر را دارم.

از برادران و خواهر عزیزم که همواره مایه دلگرمی و قوت قلبم بوده اند سپاسگزارم.

امیدوارم همه عزیزانی که به نوعی برگردن اینجانب حقی دارند، با تاسی از مغفرت صاحب حق اصلی، اینجانب را حلال نمایند.

چکیده

زمینه

این مطالعه بررسی مقایسه‌ای تاثیر شروع آنتاگونیست GnRH در فاز فولیکولار به صورت کوتاه مدت و مقایسه آن با پروتکل آنتاگونیست GnRH به صورت ثابت در سیکل آی وی اف در بیماران نابارور است.

مواد و روش کار

مطالعه بر روی ۶۰ نفر از بیماران انجام شد. بیماران بر اساس جدول اعداد تصادفی Excel (پیوست ب) به دو گروه ۳۰ نفره تقسیم گردیدند. کلیه بیماران بدون تجویز قرص جلوگیری یا سایر داروهای هورمونی وارد سیکل درمانی شدند. در گروه هدف در روز ۱ و ۲ و ۳ قاعدگی هر روز یک آمپول ستروتاید تزریق گردید و در روز ۴ قاعدگی ستروتاید قطع شد و در گروه کنترل نیز ستروتاید به صورت fixed در روز ۶ سیکل شروع شد و تا روز تزریق HCG ادامه یافت. برای هر دو گروه منوگون با دوز ۴ آمپول (۳۰۰ IU) شروع شد بیماران منوگون را به مدت ۴ روز تزریق کردند و سپس بر اساس سونوگرافی میزان آن تنظیم شد. نتایج از نظر مقدار گنادوتروپین مصرفی و تعداد اووسیت و حاملگی کلینیکی با هم مقایسه شدند. !

یافته ها

در مطالعه انجام شده از نظر میزان باروری در بین دو گروه هدف و آزمون تفاوتی وجود نداشته است. ($P \text{ value} = 0/54$)

بین دو گروه از نظر دوز ستروتاید مصرفی ($P \text{ value} = 0/0001$) و تعداد کل روزهای درمان ($P \text{ value} = 0/0001$) تفاوت معناداری وجود دارد به طوری که در گروه آزمون دوز ستروتاید بیشتر اما طول دوره درمان کمتر است. !

نتیجه گیری

در این مطالعه مشخص شد که استفاده از آنتاگونیست GnRH در فاز فولیکولار به صورت کوتاه مدت و ثابت با هم تفاوتی نداشته و تنها در پروتکل کوتاه مدت طول مدت درمان کاهش و هزینه‌ها افزایش می‌یابد.

کلمات کلیدی: ناباروری، IVF، گنادوتروپین، فاز فولیکولار

فهرست مطالب

| عنوان | صفحه |
|--|------|
| چکیده..... | ۱ |
| فصل اول - مقدمه | |
| ۱-۱ تعریف ناباروری | ۷ |
| ۲-۱ علل ناباروری..... | ۷ |
| ۳-۱ روش‌های تایید تخمک گذاری..... | ۸ |
| ۴-۱ روش بررسی لوله‌های رحمی | ۹ |
| ۵-۱ درمان | ۱۰ |
| ۶-۱ تعریف IVF | ۱۱ |
| ۷-۱ مراحل IVF..... | ۱۱ |
| ۸-۱ پروتکل تحریک تخمک گذاری | ۱۲ |
| ۹-۱ نحوه عملکرد آنتاگونیست GnRH و آگونیست GnRH | ۱۳ |
| ۱۰-۱ زمان تجویز آنتاگونیست GnRH | ۱۴ |
| ۱۱-۱ اهداف اصلی طرح | ۲۱ |
| ۱۲-۱ اهداف فرعی طرح | ۲۲ |
| ۱۳-۱ اهداف کاربردی | ۲۲ |
| عنوان | |
| ۱۴-۱ فرضیات | ۲۲ |
| فصل دوم - مروری بر متون | |
| ۱-۲ مروری بر تحقیقات گذشته | ۲۵ |
| فصل سوم - مواد و روش کار | |

| | |
|----|---|
| ۳۲ | ۱-۳ روش کار |
| ۳۳ | ۲-۳ روش محاسبه حجم نمونه و تعداد آن |
| ۳۴ | ۳-۳ نحوه توصیف و تحلیل اطلاعات |
| | فصل چهارم - نتایج |
| ۳۶ | ۱-۴ نتایج |
| | فصل پنجم - بحث و نتیجه گیری |
| ۴۴ | ۱-۵ بحث |
| ۴۵ | ۲-۵ نتیجه گیری |
| ۴۶ | ۳-۵ مشکلات اجرایی طرح و روش حل مشکلات |
| ۴۷ | منابع و مأخذ |
| ۵۳ | پیوست |
| ۵۸ | چکیده انگلیسی |

فهرست جدول‌ها

| صفحه | جدول | |
|------|-------------|--|
| ۳۶ | جدول (۴-۱)- | بررسی توزیع متغیرهای کمی با آزمون کولموگروف-اسمیرنوف |
| ۳۷ | جدول (۴-۲)- | ادامه بررسی توزیع متغیرهای کمی با آزمون کولموگروف-اسمیرنوف |
| ۳۸ | جدول (۴-۳)- | مقایسه متغیرهای دموگرافیک باروری و هوذمونی بین دو گروه |
| ۳۹ | جدول (۴-۴)- | مقایسه متغیرهای مربوط به درمان بین دو گروه کنترل و درمان |
| ۴۰ | جدول (۴-۵)- | مقایسه متغیرهای مربوط به کیفیت IVF بین دو گروه کنترل و درمان |
| ۴۱ | جدول (۴-۶)- | مقایسه میزان لانه‌گزینی و بارورسازی بین دو گروه |
| ۴۲ | جدول (۴-۷)- | مقایسه میزان حاملگی شیمیایی و بالینی بین دو گروه کنترل و درمان |

فصل اول

مقدمه

۱-۱- تعریف ناباروری

ناباروری عبارت است از یک سال مقاربت بدون جلوگیری که منجر به لقاح نگردد. ناباروری تقریباً در ۱۰-۱۵٪ زوج‌ها دیده می‌شود. هر چند انتظار یک ساله برای ارزیابی ناباروری در زوج‌های جوانی که سابقه‌ای از اختلال در دستگاه تناسلی ندارند عقلانی به نظر می‌رسد، لیکن بهتر است بررسی را در زوج‌هایی که سابقه مثبت اختلال باروری داشته یا سن مادر بالا است زودتر آغاز کنیم. (۱) تشخیص و ارزیابی ناباروری بسیار مشکل می‌باشد زیرا اتیولوژی سقط‌های مکرر (RPL)^۱ ممکن است قابل تشخیص نباشد و علاوه بر این استراتژی‌های ارزیابی و درمان محدود و کم می‌باشد.

۱-۲- علل ناباروری بسیار مختلف و شامل دو دسته می‌باشد:

۱- علل اصلی: نقایص یا اختلال عملکرد اسپرم، نارسایی در تخمک‌گذاری، آسیب عفونی لوله‌های رحمی، نازایی بدون توجیه

۲- سایر علل مانند آندومتریوز، مقاربت نادرست یا بدون تداوم، سل دستگاه تناسلی و...

سندرم تخمدان پلی کیستیک^۲، شایع‌ترین علت عدم تخمک‌گذاری و ناباروری است و در ۵-۱۰ درصد زنان سنین باروری (۲) به دلیل افزایش سطح آندروژن و یا مقاومت به انسولین ایجاد می‌شود. تقریباً ۸۵ درصد از این زنان سطح بالایی از LH و آندروستندیون دارند که به دلیل توقف رشد فولیکول‌های تخمدان می‌باشد. (۳)

بررسی اولیه شامل شرح حال و معاینه فیزیکی کامل لگن است که می‌توان اختلال تخمک‌گذاری، عوامل خطر لوله‌های رحمی، ناهنجاری‌های رحمی و... را تشخیص داد. گرفتن شرح حال از شریک جنسی مذکر اهمیت اساسی دارد زیرا ناهنجاری‌های اسپرم ۳۰-۴۰ درصد علل ناباروری را شامل می‌شود.

^۱ Recurrent Pregnancy Rate

^۲ PCOS

در ارزیابی‌های بعدی آزمایشات لازم را باید انجام داد که شامل سه آزمایش مهم آنالیز مایع منی، تائید تخمک‌گذاری و بررسی رحم و لوله‌های رحمی می‌باشد.

آنالیز مایع منی شیوه ارزیابی فاکتور مردانه می‌باشد که در صورت غیرطبیعی بودن باید از کامل بودن نمونه، نمونه استریل و بدون استرس اطمینان حاصل کرد که جهت تائید غیرطبیعی بودن آزمایش باید آنالیز مایع منی تکرار شود.

۱-۳- جهت تائید تخمک‌گذاری سه روش وجود دارد:

۱) چارت درجه حرارت پایه بدن

۲) LH کیت

۳) پروژسترون سرم در میانه فاز لوتئال (روزهای ۱۸ تا ۲۴) ارزیابی در زنان بالای ۳۵ سال بایستی شامل آزمایش کاهش عملکرد تخمدان هم باشد. برای این منظور از تست کلاسیک سطح FSH روز سوم استفاده می‌شود و جهت ارزیابی ذخیره تخمدان از تست چالش با کلومیفن سترات هم می‌توان کمک گرفت.

۱-۴- برای بررسی رحم و لوله‌های رحمی چندین روش وجود دارد:

ناهنجاری‌های آناتومی رحم که عامل سقط‌های مکرر^۳ می‌باشند به صورت تیپیک یا با هیستروسالپینگوگرافی^۴ یا سونو هیستروگرافی و یا هیستروسکوپی قابل تشخیص است. که روش دوم (سونو هیستروگرافی) را ترجیح می‌دهیم زیرا نسبت به هیستروسالپینگوگرافی و اطلاعات بدست آمده از سونوگرافی به تنهایی دقیقتر است در صورت نیاز می‌توان از MRI و یا لاپاراسکوپی استفاده کرد ولی این

^۳ Recurrent Pregnancy Loss (RPL)

^۴ HSG

روش نسبت به سونوهیستروسکوپی پرهزینه تر و تهاجمی تر می باشد. بنابراین به عنوان خط دوم در صورت نیاز استفاده می شود.

Sonohystrography

سونوهیستروگرافی محدوده داخلی رحم با سونوگرافی از روی سطح خارجی و اندازه دیواره رحم را مشخص می نماید. همچنین اطلاعاتی راجع به قدرت تیوپها و تفاوت میان رحم دیواره دار و رحم دوشاخ را نشان می دهد این روش اطلاعات دقیقتری نسبت به ناهنجاری رحم را فراهم می کند.

هیستروسالپنگوگرافی (HSG)

اطلاعاتی مانند سونوهیستروگرافی را فراهم می کند. این روش اطلاعات بیشتری راجع به ناهنجاری تیوپ و قدرت آنها را فراهم می کند.

Hysteroscopy

این روش استاندارد طلایی جهت تشخیص ناهنجاری داخل رحمی می باشد. همچنین می توان از این روش جهت درمان زخم های درون رحم استفاده کرد اما این روش نمی تواند بین رحم دیواره دار و شاخ دار را افتراق بگذارد.

سایر ارزیابی های پیشرفته شامل بررسی فاکتور مردانه و انجام آزمایشات هورمونی (تستوسترون، LH,FSH و پرولاکتین) در تشخیص اتیولوژی الیگواسپرمی یا آزواسپرمی می باشد. علاوه بر این لازم است زنان دچار الیگومنوره از لحاظ هیپوتالاموسی، هیپوفیزی، تخمدانی یا آدرنالی بررسی شوند. نقایص فاز لوتئال از علل نادر ناباروری بوده و تست آزمایشگاهی مطمئنی برای تأیید آن وجود ندارد. به علاوه داروهایی که برای درمان ناباروری بدون توجه به کار می روند قادر به اصلاح نقایص فاز لوتئال نیز هستند. زنانی را که فاز لوتئال کوتاهی دارند می توان به صورت تجربی توسط پروژسترون، کلومیفن سیترات و گنادوتروپین ها درمان نمود.

از سایر تست‌هایی که می‌توان جهت ارزیابی زوج نابارور استفاده نمود انجام کاریوتایپ والدین می‌باشد که این روش یک قسمت در ارزیابی RPL می‌باشد که هدف مشخص نمودن عدم تعادل دوطرفه یا جابجایی رابرتسون یا موزائیسیم می‌باشد که می‌تواند باعث عدم تعادل جنین شود.

ناهنجاری کروموزومی در لام خون محیطی والدین قابل تشخیص است که به صورت غیرمستقیم محدوده کاریوتایپ جنین را مشخص می‌کند.

۱-۵- درمان:

حدود ۱۰-۱۵ درصد زوجها نابارور هستند و در اغلب موارد نیاز است از روش‌های کمک باروری که در اصطلاح علمی به آن ART^۵ می‌گویند استفاده شود. روش‌های کمک باروری انواع بسیار زیادی دارند که از بسیار ساده شروع و به بسیار پیچیده ختم می‌شود. باید دانست که هر زوجی نیازهای مخصوص به خودشان را دارند و باید روش مناسب هرزوج را به آنها پیشنهاد کرد.

کلومیفن سیتрат خط اول درمان در خانم‌های با تخمدان پلی کیستیک که تخمک‌گذاری ندارند می‌باشد که در اثر آن تخمک‌گذاری حدود ۸۵-۶۰ درصد ولی بارداری تنها ۴۰-۳۰ درصد موارد اتفاق می‌افتد. (۴) در مقاومت به کلومیفن در خانم‌های با تخمدان پلی کیستیک تخمک‌گذاری توسط گنادوتروپین به همراه Recombinant FSH مؤثرترین درمان شناخته شده است. مشکل درمان با گنادوتروپین معمولی در بیماران این است که این افراد نیاز به پیگیری مداوم دارند تا رشد چندین فولیکول و بارداری اتفاق بیفتد. (۵ و ۶)

تزریق داخل رحمی^۶ و لقاح آزمایشگاهی^۷ به همراه تزریق اسپرم داخل سیتوپلاسم^۸ فرصت باروری را برای بسیاری از زوجها فراهم آورده‌اند. در الیگواسپرمی شدیدتر، IVF بیشترین احتمال موفقیت را به همراه خواهد داشت. ICSI عموماً برای الیگواسپرمی شدید (کمتر از ۱۰-۲ اسپرم در میلی‌لیتر)، آستنواسپرمی شدید (کمتر از ۱۰-۵ درصد اسپرم متحرک) یا مورفولوژی ضعیف (کمتر از ۴٪ اشکال طبیعی) توصیه می‌گردد.

^۵ Assisted Reproductive Techniques

^۶ IUI

^۷ IVF

^۸ ICSI

IVF-۶-۱

IVF مانند IUI یکی از روش‌های کمک باروری می‌باشد (ART). برخلاف IUI که در آن اسپرم‌های مرد توسط لوله‌ای وارد رحم خانم می‌شوند در IVF تخمک خانم با اسپرم مرد در خارج از بدن در محیط آزمایشگاه با هم ترکیب می‌شوند و پس از لقاح جنین حاصله در داخل رحم خانم گذاشته می‌شود. از زمان تولد اولین نوزاد با استفاده از روش درمانی IVF این روش درمانی امید تازه‌ای برای زوج‌های نابارور به وجود آورده است. در تمام مواردی که شرایط رسیدن اسپرم به تخمک در رحم فراهم نباشد مانند بسته بودن لوله‌های رحمی، چسبندگی حفره‌های لگنی، تعداد کم اسپرم و تحرک پایین اسپرم از روش IVF استفاده می‌شود.

IVF-۷-۱ مراحل IVF

در روز عمل، تخمک تحت یک بیهوشی کوتاه و موقت از زن گرفته می‌شود. نمونه اسپرم از مرد گرفته شده و در آزمایشگاه آندروولوژی شسته شده آماده استفاده برای انجام IVF می‌گردد. سپس اسپرم و تخمک در آزمایشگاه جنین‌شناسی در محیط کشت، مجاور یکدیگر قرار داده می‌شود تا اسپرم خودش وارد تخمک شده و آن را بارور کند.

به تخمک لقاح یافته، جنین گفته می‌شود. جنین تک سلولی شروع به تقسیم می‌کند و یک جنین چند سلولی ایجاد می‌شود. معمولاً جنین پس از ۴۸ تا ۷۲ ساعت هنگامی که به مرحله ۸-۴ سلولی رسید به رحم زن منتقل می‌شود تا در آنجا لانه‌گزینی کند و بارداری انجام شود.

جهت افزایش شانس بارداری بیش از یک جنین درون رحم قرار داده می‌شود که این رویکرد گاه منجر به چندقلوزایی می‌گردد. بروز چندقلوزایی به سن مادر (در زنان جوان‌تر احتمال چندقلوزایی بیشتر است) و تعداد جنین‌های انتقال‌یافته بستگی دارد. در یک خانم ۲۰ تا ۲۹ ساله با سه جنین انتقال‌یافته احتمال چندقلوزایی ۴۶ درصد است.

به طور کلی می‌توان مراحل انجام عمل IVF را به پنج مرحله تقسیم کرد

- ✓ مرحله اول: تحریک تخمک‌گذاری
- ✓ مرحله دوم: جمع‌آوری تخمک‌ها
- ✓ مرحله سوم: تهیه و آماده‌سازی اسپرم
- ✓ مرحله چهارم: لقاح و رشد جنین در محیط آزمایشگاه
- ✓ مرحله پنجم: انتقال جنین به داخل رحم

۸-۱- پروتکل‌های تحریک تخمک‌گذاری در IVF

سه پروتکل جهت این اقدام وجود دارد:

۱) درمان دارویی جهت سرکوب کردن سطح LH و القای تخمک‌گذاری زمانی که تخمک‌ها آماده باشند. دو روش جهت درمان دارویی وجود دارد:

الف) آگونیست GnRH مانند Lupron

ب) آنتاگونیست GnRH مانند Ganirelix یا ستروتاید

آنتاگونیست GnRH بطور گسترده در آی وی اف استفاده می‌گردد. این دارو برای مهار پیک زدن LH بکار می‌رود. آنتاگونیست‌ها به موازات آگونیست‌ها پیشرفت کرده است. در آنتاگونیست‌های نسل اول تغییرات در موقعیت ۳ و ۲ اسید آمینه‌ای GnRH‌ها ایجاد شده است. در بررسی این آنتاگونیست‌ها در آزمایشگاه اثرات مفید آن مشخص شده است ولی برای ایجاد این اثرات نیاز به دوزهای بالا وجود دارد. در آنتاگونیست‌های نسل دوم تغییر در اسید آمینه شماره ۶ ایجاد شده است و همچنین D – آرژنین نیز در موقعیت ۶ وارد شده است. عوارض جانبی آنتاگونیست‌های اولیه اریتم موضعی، اندوراسیون، ادم ژنرالیزه و راکسیون آنافیلاکتیک است. این عوارض جانبی به علت رها شدن هیستامین است و علت آن دگرانوله شدن ماست سل‌ها پس از اتصال آنتاگونیست‌ها به رسپتورهای GnRH است. برای کاهش این عوارض آنتاگونیست‌های نسل سوم و چهارم وارد بازار شدند. این آنتاگونیست‌ها به علت قدرت بالا، دوره اثر طولانی و کمتر بودن عوارض جانبی مورد توجه واقع شده‌اند. در این نوع آنتاگونیست‌ها تغییرات در اسید آمینه‌های ۱، ۲، ۳، ۶ و ۱۰ مولکول GnRH ایجاد شده است. تغییر در

اولین سه اسید آمینه باعث تشکیل فراورده‌های سترورلیکس و گانیرلیکس شده است. جانشینی در اسید آمینه شماره ۶ باعث افزایش نیمه عمر آنها نسبت به GnRH طبیعی می شود و تغییر در اسید آمینه ۸ و ۱۰ باعث حذف عوارض جانبی مرتبط با هیستامین می گردد. (۷)

(۲) محصولات FSH جهت تحریک رشد فولیکول‌ها و آماده سازی چندین تخمک مانند Menopur و

Bravelle و...

(۳) HCG^۹ که باعث آماده سازی نهایی تخمک‌ها می شود.

۹-۱- نحوه عملکرد آنتاگونیست GnRH و آگونیست GnRH:

آگونیست GnRH پاسخ‌دهی رسپتورهای GnRH را کاهش می دهد و آنتاگونیست‌ها به طور رقابتی به رسپتورهای GnRH هیپوفیز متصل می شود و باعث بلوک توانائی GnRH بر روی ترشح LH, FSH از گنادوتروپ‌ها می شود. در صورت وجود مقادیر کافی آنتاگونیست‌ها سرکوب کامل LH, FSH وجود خواهد داشت. مطالعات کلینیکی ثابت کرده اند که آنتاگونیست‌ها در پیشگیری از LH surge در طی سیکل های تحریک تخمدانی موثر است. در سیکل های تحریک تخمک گذاری زمانی که سطح استرادیول خون بالا رفت آنتاگونیست‌ها تجویز می شوند. در این صورت در بیمار هیچگونه علائمی از کمبود استروژن ایجاد نخواهد شد. از آنجایی که آنتاگونیست‌ها باعث تخلیه کامل هیپوفیز نمی شود در صورت استفاده از دوز مناسب بلافاصله اثر مهاری آن ظاهر می شود فایده دیگر آنتاگونیست‌ها دوره کوتاهتر مصرف آنتاگونیست‌ها و دوره کوتاه تر مصرف گنادوتروپین‌ها است. (۸)

۱۰-۱- زمان تجویز آنتاگونیست‌های GnRH:

^۹ Human Chorionic Gonadotropin

در مطالعات اولیه بیشتر از تزریق تک دوز آنتاگونیست براساس پاسخ تخمدانی استفاده می‌شده است. . تک دوز آنتاگونیست زمانی که سطح استرادیول به میزان مشخصی برسد و یا سایز فولیکول اندازه مناسبی داشته باشد تزریق می‌گردد. برای استفاده از دوزهای متعدد آنتاگونیست دو روش موجود است که یکی از آنها روش ثابت و دیگری روش flexible است. در روش flexible زمانی که سایز فولیکول به ۱۴ میلی‌متر برسد و در روش ثابت از روز ششم تحریک گنادوتروپین روزانه ۰/۲۵ میلی‌گرم آنتاگونیست تزریق می‌گردد. (۹ و ۱۰)

تحریک از طریق گنادوتروپین و افزودن آنتاگونیست GnRH:

با معرفی نسبتاً اخیر آنتاگونیست‌های GnRH به صحنه طب بالینی، گزینه دیگری برای تحریک تخمدان ART فراهم شده است. برخلاف آگونیست‌های طولانی اثر که ابتدا سبب تحریک و سپس مهار ترشح گنادوتروپین هیپوفیزی می‌شود (از طریق حساسیت‌زدایی گنادوتروف‌ها به GnRH با تنظیم کاهشی گیرنده‌ها) آنتاگونیست‌ها با روش رقابتی وابسته به دوز گیرنده‌های GnRH را بلوک می‌کنند و با اثر flare همراه نیستند. سرکوب گنادوتروپین‌ها تقریباً به طور فوری حاصل می‌شود. آنتاگونیست‌های GnRH مزایای بالقوه متعددی بر آگونیست‌ها دارند. اولین مزیت این است که مدت درمان با آنتاگونیست به طور قابل توجهی کمتر از مدت درمان با آگونیست بوده و باعث پیشگیری از ترشح ناگهانی پیش از موعد LH درونزا و آثار و عوارض آن می‌شود، می‌توان تا مراحل نهایی تکامل فولیکول (بعد از ۵-۷ روز تحریک گنادوتروپینی) و تا بعد از افزایش میزان استرادیول این درمان را به تعویق انداخت تا علائم کمبود آندروژن که ممکن است در زنان درمان شده با آگونیست پدیدار شوند، به وجود نیایند. مزیت دوم این است که چون هرگونه اثر سرکوب‌گر آگونیست‌ها بر پاسخ تخمدان به تحریک گنادوتروپینی نیز از بین می‌رود ممکن است دوز کلی و مدت زمان لازم برای تحریک گنادوتروپینی کاهش پیدا کند. بنا به همین دلیل، آن دسته از پروتکل‌های تحریک که در آنها از یک آنتاگونیست استفاده می‌شود، ممکن است در زنانی نیز که قبلاً هنگام استفاده از آنتاگونیست‌های GnRH با پرهیز از اثر flare آنتاگونیست‌ها، از خطر تحریک تشکیل کیست فولیکولی جلوگیری می‌شود. در نهایت، چنین به نظر می‌رسد که خطر نوع شدید تحریک بیش از حد تخمدان نیز در مور مصرف آنتاگونیست‌ها کمتر از میزانی است که موارد مصرف آگونیست‌ها دیده می‌شود. (۱۱ و ۱۲) آنتاگونیست‌ها سطح استرادیول پایین‌تری در روز تزریق HCG نسبت به آگونیست‌ها دارند. فعالیت protein kinase (pkc) در سلولهای لوتینی گرانولوزای تخمدانی

در گروه آنتاگونیست ۲/۵ برابرگروه آگونیست می‌باشد. کاهش حساسیت به (pkc) باعث افزایش استروئیدسازی با واسطه FSH می‌گردد. بر عکس در گروه آگونیست فعالیت (pkc) در حد بسیار بالایی است پس با تاثیر محدود FSH تکامل فولیکول و اعمال جسم زرد تعدیل می‌گردد. (۱۳)

آنتاگونیست‌های GnRH معایب بالقوه چندی نیز دارند. هنگامی که این داروها با دوزهای هرروزه اندک تجویز می‌شوند پیروی دقیق از رژیم درمانی تجویز شده ضرورت دارد. همچنین آنتاگونیست‌ها کامل‌تر از آگونیست‌ها ترشح گنادوتروپین درونزا را سرکوب می‌کنند اگرچه میزان اندک LH که در درمان با آگونیست دیده می‌شود معمولاً در موارد استفاده از uFSH ویا rFSH به منظور تحریک، برای حمایت از استروئیدسازی فولیکولی طبیعی کفایت می‌کند، مقادیر کمتری که در زنان درمان شده با آنتاگونیست وجود دارند قادر به این میزان حمایت نیستند. در واقع، هنگامی که درمان با آنتاگونیست وجود دارند قادر به این میزان حمایت نیستند. در واقع هنگامی که درمان با آنتاگونیست شروع می‌شود ممکن است میزان سرمی استرادیول به حدکفه‌ای (ثابت) برسد یا افت کند. اگرچه رشد فولیکولی ظاهراً تحت تاثیر قرار نمی‌گیرد، بسیاری از صاحب‌نظران ترجیح می‌دهند در همان زمان دوز کمی از HMG (۷۵ واحد) را به درمان اضافه کرده و یا آن را جایگزین درمان کنند. نکته سوم این است که شواهدی وجود دارند که نشان می‌دهند نسبت به سیکل‌هایی که در آنها از آگونیست‌ها به صورت پروتکل طولانی مدت استفاده می‌شود، میزان حاملگی در سیکل‌های درمان با آنتاگونیست ممکن است اندکی کمتر باشد. دلیل احتمالی این مسئله این است که آنتاگونیست GnRH ممکن است برنامه ریزی میتوتیک سلول‌های مداخله کننده در فولیکولوژنز، تشکیل بلاستومر و تکامل اندومتر را تحت تاثیر قرار دهند.

از دو آنتاگونیست GnRH که برای کاربرد بالینی در دسترس هستند، گانی‌رلیکس (ganirelix) و سترورلیکس (Cetrorelix) نام دارند و از قدرت و کارایی معادلی برخوردار هستند. در مورد هر دو دارو، حداقل دوز برای جلوگیری از ترشح ناگهانی پیش از موعد LH، ۰/۲۵ میلی‌گرم در روز است که به صورت زیرجلدی تجویز می‌شود. هم گانی‌رلیکس و هم سترورلیکس را می‌توان به صورت مجموعه‌ای دوزهای اندک هرروزه ۰/۲۵ میلی‌گرم تجویز کرد. پروتکل درمان را می‌توان طوری تثبیت کرد که پس از ۵-۶ روز تحریک گنادوتروپینی شروع شود. همچنین می‌توان پروتکل را براساس پاسخ هر فرد طراحی کرد و هنگامی که قطر

فولیکول اصلی به حدود ۱۴-۱۳ میلی متر می‌رسد اقدام به شروع درمان کرد. شواهد نشان می‌دهند که رژیم طراحی شده بر پایه خصوصیات هر فرد، عموماً به دوز کلی کمتری نیاز دارد و ممکن است با نتایج کلی بهتری همراه باشد. به همین ترتیب، دوز واحد بالاتر سرتروریکس ۳ میلی گرم به طور موثری به مدت ۹۶ ساعت از ترشح ناگهانی LH جلوگیری می‌کند. (۱۴) اگر دارو در روزهای ۶-۷ تحریک تجویز شود، فاصله زمانی سرکوب موثر، در اکثر زنان (۷۵-۹۰ درصد موارد) روز تجویز HCG را نیز پوشش می‌دهد. در بقیه زنان می‌توان براساس نیاز، دوزهای روزانه بیشتری را ارائه کرد (۰/۲۵ میلی گرم) و در روز تجویز HCG به تجویز آن خاتمه داد. رژیم درمانی تک دوز آنتاگونیست را نیز می‌توان تا رسیدن قطر فولیکول اصلی به ۱۴-۱۳ میلی متر، به تعویق انداخت. (۱۵)

نتایج هریک از کارآزمایی‌های بالینی تصادفی که قبلاً در مورد مقایسه پروتکل ثابت درمان آنتاگونیستی با پروتکل استاندارد طولانی مدت صورت گرفته بودند، نشان می‌دهند که با این دو رژیم تحریکی، میزان حاملگی مشابهی به دست می‌آید. با وجود این، در یک متاآنالیز مشخص شد که میزان حاملگی بالینی در سیکل‌های درمان با آنتاگونیست علی‌رغم انتقال تعداد معادلی از رویان‌های دارای کیفیت خوب، حدود ۵ درصد کمتر بوده است. به طور کلی، میزان کلی دوز و مدت لازم برای تحریک گنادوتروپینی، حداکثر میزان سرمی استرادیول و تعداد فولیکول‌ها و اووسیت‌ها نیز در سیکل‌های درمان با آنتاگونیست کمتر بود. مقادیر بالاتر تحریک گنادوتروپینی، ممکن است به افزایش تعداد فولیکول‌ها و اووسیت‌ها در سیکل‌های درمان با آنتاگونیست کمک کند. (۱۶)

دلیل کاهش اندک میزان حاملگی در سیکل‌های درمان با آنتاگونیست، مشخص نیست این احتمال وجود دارد که آنتاگونیست‌های GnRH ممکن است آثار نامطلوبی بر اووسیت‌ها، رویان‌ها یا اندومتر (۱۷) داشته باشند. محتمل‌تر این است که نتایج اولیه صرفاً بازتابی از کمبود تجربه بوده‌اند و با گذشت زمان و اصلاح‌های بعدی رژیم درمانی بهبود پیدا کرده‌اند. (۱۸) مشخص نیست که آیا آنتاگونیست‌ها در نهایت خواهند توانست به طور کامل جای آگونیست‌ها را بگیرند و به بخش استاندارد از رژیم‌های تحریک ART تبدیل شوند. برخی مطالعات بیان کرده‌اند که تکامل اندومتر در سیکل‌هایی که آنتاگونیست گرفته‌اند نسبت به گروهی که آگونیست دریافت کرده‌اند به اندومتر سیکل طبیعی نزدیک‌تر است. (۱۹) از طرف دیگر Rackow ذکر کرده است که

آنتاگونیست‌ها بروز ژن HOXA10 را در اندومتر مختل می‌کنند. (۲۰) اما آنتاگونیست‌ها به عنوان روشی بسیار امید بخش در زنان مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک و زنانی که بعد از درمان با آگونیست پاسخ ضعیفی به درمان داده‌اند، در نظر گرفته شده‌اند. (۲۱ و ۲۲)

در زنان مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک، مشخصاً ترشح تونیک و زیاد LH دیده می‌شود و این زنان هنگامی که با رژیم‌های استاندارد القای تخمک‌گذاری تحت درمان قرار می‌گیرند، بخصوص در صورتی که چاق باشند، در معرض ترشح ناگهانی پیش از موعد LH قرار خواهند داشت. در زنان مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک، هنگامی که تحریک شدید با گنادوتروپین برونزا صورت می‌گیرد، خطر تحریک بیش از حد تخمدان نیز افزایش پیدا می‌کند. هم آگونیست‌ها و هم آنتاگونیست‌ها می‌توانند مقادیر در گردش بالای LH را سرکوب کنند، (۲۳) اما گروه‌های فولیکولی کوچکتري که در سیکل‌های آنتاگونیستی دیده می‌شود ممکن است در آن دسته از زنان مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک که پاسخ شدیدی به تحریک نشان می‌دهند، به کاهش خطر تحریک بیش از حد تخمدان کمک کنند. (۲۴) تجویز آنتاگونیست به جای آگونیست، این فرصت را نیز فراهم می‌کند که برای القای بلوغ نهایی اووسیت به جای HCG از آگونیست استفاده شود و در نتیجه خطر سندرم تحریک بیش از حد تخمدان نیز احتمالاً بیش از پیش کاهش پیدا می‌کند، (۲۵) اگر چه تزریق یک واحد (لوپروئید ۰/۵ میلی گرم ، تریپتورلین ۰/۲ میلی گرم) سبب شعله ور شدن افزایش ناگهانی فیزیولوژیک LH می‌شود که کمتر از ۲۴ ساعت طول می‌کشد و با افزایش حاد FSH همراه است، میزان HCG به مدت چند روز باقی می‌ماند و سبب تحریک چشمگیر مقادیر بالاتر استرادیول و پروژسترون می‌شود. (۲۶ و ۲۷)

رژیم‌های درمان با آنتاگونیست که در حال حاضر به کار می‌روند با مزایای بالقوه‌ای در زنان مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک همراه هستند. افزایش تونیک میزان LH در این زنان، تا شروع درمان با آنتاگونیست پابرجا می‌ماند. در نتیجه، به ویژه اگر درمان با آنتاگونیست تا رسیدن قطر فولیکول اصلی به ۱۴ میلی متر یا بیشتر به تاخیر انداخته شود میزان LH ممکن است به صورت پیش از موعد افزایش پیدا کند. علاوه بر این شواهد نشان می‌دهند که افزایش تماس با LH در اوایل تکامل فولیکولی، ممکن است مضر باشد و زمینه را برای کاهش میزان حاملگی فراهم کند. ازدید تئوریک پیش درمانی با کنتراستپتو خوراکی، با سرکوب میزان LH و آندروژن قبل از شروع تحریک، قاعدتاً باید بسیار سودمند باشد. این کار تماس با این مواد را در اوایل تکامل

فولیکولی کاهش می‌دهد و از خطر افزایش LH قبل از شروع درمان با آنتاگونیست می‌کاهد. سرکوب مقدماتی با کنتراسپتیو خوراکی و تجویز بعدی آنتاگونیست، ممکن است به محدود شدن پاسخ فولیکولی در برابر تحریک گنادوتروپینی نیز کمک می‌کند و امکان استفاده از آنتاگونیست را برای تسریع بلوغ نهایی اووسیت فراهم نماید. شروع زودتر درمان با آنتاگونیست، ممکن است با مزایای مشابهی همراه باشد.

پاسخ دهنده‌های ضعیف گروه دیگری هستند که در آنها آنتاگونیست‌های GnRH ممکن است ارزش ویژه‌ای داشته باشند. چون درمان با آنتاگونیست سبب می‌شود هرگونه اثر سرکوبگر آگونیست‌های طولانی اثر بر روی پاسخ فولیکولی منتفی شود و از ترشح ناگهانی پیش از موعد LH که به طور شایع در زنان تحریک شده با گنادوتروپین به تنهایی دیده می‌شود، جلوگیری گردد. (۲۸)

در IVF افزایش میزان Follicular LH روی میزان باروری و سرانجام بارداری اثرات مضر دارد (۲۹) بنابراین این یک تئوری مفید در افزایش آنتاگونیست GnRH در القا تخمک‌گذاری خصوصاً در بیماران با سندرم تخمدان پلی کیستیک می‌باشد.

معرفی آنتاگونیست GnRH در پروتکل تحریک تخمدان در IVF نسبت به گذشته در پروتکل القا تخمک‌گذاری کاربردی می‌باشد. دستیابی به آنتاگونیست GnRH جهت مهار کردن تخمک‌گذاری روش نسبتاً جدید، ساده و ایمن در تحریک تخمک‌گذاری را پدید آورده است. (۳۰)

روش آنتاگونیست GnRH در فاز تاخیری فولیکولار از نوسان شدید LH جلوگیری می‌کند. (۳۱ و ۳۲) برخی از control trial‌های وسیع نشان می‌دهند استفاده از آنتاگونیست GnRH نتیجه برابری نسبت به خانم‌های تحت درمان با آگونیست GnRH دارد. همراه با این مزیت که استفاده از گنادوتروپین‌ها دوره‌های تحریک را کاهش می‌دهد. (۳۳ و ۳۴)

در برخی مطالعات مانند مطالعه مروری Cochrane بر روی نمونه ۲۷ تایی تصادفی نشان می‌دهد میزان بارداری در استفاده از آنتاگونیست GnRH کمتر بوده است. (۳۵ و ۳۶)

بسیاری از مطالعات در سیکل Multi follicular ovarian stimulation بر روی بی‌کفایتی فاز لوتال به عنوان علت کاهش لانه‌گزینی در درمان تولید نسل توجه دارند.

مهمترین عارضه تحریک تخمک‌گذاری تحریک بیش از حد تخمدان (OHSS) می‌باشد و این عامل بسیار قوی در تهدید حیات می‌باشد. میزان درصد OHSS در مراکز مختلف متفاوت است و از ۱-۱۰ درصد تخمین زده می‌شود. علاوه بر این در ۱-۲ درصد سیکل‌های درمانی تهدیدکننده حیات می‌باشد. (۳۷)

جهت جلوگیری از OHSS در سیکل‌های تحریک با پروتکل GnRH طولانی‌اثر می‌توان با قطع کردن HCG و کنسل کردن سیکل‌ها می‌توان از OHSS جلوگیری کرد ولی هزینه سنگین مالی و فیزیولوژی برای بیمار به همراه دارد.

اخیرا در مطالعه Cochrane نشان داده شده است که استفاده از آلبومین وریدی در جلوگیری از OHSS تاثیری ندارد. بر اساس مطالعه دیگر Cochrane شواهد ناکافی مبنی بر استفاده روتین از cryopreservation برای جلوگیری از OHSS وجود دارد.

استفاده از آگونیست GnRH در مراحل آخر بلوغ اوسیت نسبت به پروتکل استفاده از آنتاگونیست GnRH جهت ریسک OHSS مؤثرتر است ولی این روش با کاهش میزان لانه‌گزینی و بارداری همراه است. از زمان معرفی Coasting به عنوان یک روش محافظتی جهت OHSS در IVF این روش گسترده شده و به عنوان انتخاب اول در درمان بیماران پر خطر به عنوان روش مؤثر استفاده می‌شود.

علاوه بر این اخیرا Gustafson در مطالعات مروری و بازنگرانه نشان می‌دهد که نتایج آنتاگونیست GnRH در کاهش غلظت استرادیول در خانم‌هایی که قبلا معالجه شده‌اند به همراه پروتکل طولانی‌مدت آگونیست GnRH می‌تواند میزان OHSS را کم کند. میزان کم دوز گنادوتروپین جهت تحریک تخمک‌گذاری نیاز است و خطر تولید کیست کم و علائم محرومیت هورمونی و میزان OHSS نیز کم است. (۳۸)

OHSS به ندرت ایاتروژنیک می‌باشد و عوارض تهدیدکننده حیات در طول کنترل تحریک تخمک‌گذاری می‌باشد.

در مطالعه دیگر پیشنهاد شده است علاوه بر استفاده از HCG استفاده از آگونیست GnRH به عنوان هدف در مرحله نهایی اندازه‌گیری اووسیت و ارزیابی آن می‌تواند میزان OHSS را در خانم‌های پر خطر کاهش دهد.

میزان بارداری در استفاده از آنتاگونیست GnRH کمتر از پروتکل آگونیست GnRH می‌باشد. علاوه بر این در متاآنالیز Cochrane در سال ۲۰۰۶ مشخص شده است که میزان حاملگی کلینیکی در مقایسه با گروهی که آگونیست GnRH استفاده کرده است کمتر بوده است.

بنابراین چند استراتژی وجود دارد که استفاده از پروتکل آنتاگونیست GnRH در ART می‌تواند نتایج بهتری بدهد. استفاده از این پروتکل به صورت Flexible نسبت به پروتکل آنتاگونیست GnRH به صورت ثابت نتایج بهتری را می‌دهد. (۳۹) همچنین استفاده از کنتراسپتیو خوراکی قبل از روش درمانی IVF می‌تواند نتایج آنتاگونیست GnRH را زودتر به مرحله اجرا بگذارد (۴۰) و می‌توان آنتاگونیست GnRH را از روز اول تخمک‌گذاری شروع و تا روز دادن HCG ادامه داد (۴۱)

HCG معمولاً زمانی که قطر فولیکول‌ها به ۱۸ میلی‌متر برسد تجویز می‌گردد.

بر اساس یک مطالعه گفته شده است که مهار کردن غده هیپوفیز از زمان شروع فاز فولیکولار میزان گنادوتروپین را کمتر و افزایش فعالیت آن در اواسط فاز فولیکولار قبل از شروع تحریک تخمک‌گذاری با گنادوتروپین به پروتکل استفاده از آگونیست GnRH شباهت دارد و در استفاده از پروتکل آنتاگونیست هنوز بحث وجود دارد.

اما سطح ثابت آنتاگونیست GnRH دو روز پس از درمان افزایش می‌یابد. (۴۲) برای دستیابی به این میزان باید آنتاگونیست GnRH را در روزهای ۱ و ۲ و ۳ در سیکل قاعدگی داد.

علاوه بر این تحریک تخمک‌گذاری با گنادوتروپین در روز سوم سیکل شروع می‌شود و آنتاگونیست GnRH دوباره افزایش می‌یابد تا زمانی که قطر فولیکول به ۱۴-۱۵ میلی‌متر برسد و تا روز دادن HCG ادامه می‌یابد. در میان مطالعات مشهود است که مقایسه معناداری میان کیفیت جنین‌ها وجود دارد اگر کنترل تحریک تخمک‌گذاری با درمان کوتاه مدت آنتاگونیست GnRH انجام شود در مقایسه با پروتکل آگونیست GnRH (۴۳)

با توجه به فواید آنتاگونیست در درمان IVF، هدف از این مطالعه ایجاد تغییراتی در پروتکل آنتاگونیست می‌باشد تا شانس حاملگی را بالاتر ببرد. تجویز کوتاه مدت آنتاگونیست در فاز فولیکولار باعث می‌شود که FSH داخلی مهار شود و فولیکول‌ها رشد متقارنی داشته باشند! در ضمن سطح پروژسترون و LH را در فاز فولیکولار مهار می‌کند و همین عامل باعث می‌شود که پذیرش اندومتر برای لانه‌گزینی مناسب‌تر باشد! پس هدف از این مطالعه این است که با تجویز آنتاگونیست GnRH بصورت کوتاه مدت در روزهای ۱ و ۲ و ۳ قاعدگی شانس حاملگی بالاتری نسبت به درمان معمول با آنتاگونیست GnRH به صورت ثابت داشته باشیم. در ضمن عارضه هیپراستیمولیشن هم در این روش کمتر است.

۱۱-۱- اهداف اصلی طرح (General Objectives):

تأثیر شروع آنتاگونیست GnRH در فاز فولیکولار به صورت کوتاه مدت و مقایسه آن با پروتکل

آنتاگونیست GnRH به صورت ثابت در سیکل آی وی اف در بیماران نابارور مراجعه کننده به

کلینیک نازائی ابوالفضل بوشهر ۱۳۹۳

۱۲-۱- اهداف فرعی طرح (Specific Objectives)

- ۱- تعیین و مقایسه متغیرهای دموگرافیک (سن، مدت ناباروری، علت ناباروری) در دو گروه درمان و کنترل
- ۲- تعیین و مقایسه سطح سرمی FSH و استرادیول در دو گروه درمان و کنترل
- ۳- تعیین و مقایسه تعداد فولیکول‌ها در دو گروه درمان و کنترل
- ۴- تعیین و مقایسه طول مدت درمان در یک سیکل در دو گروه درمان و کنترل
- ۵- تعیین و مقایسه قطر فولیکول‌ها در دو گروه درمان و کنترل
- ۶- تعیین و مقایسه ضخامت اندومتر در دو گروه درمان و کنترل
- ۷- تعیین و مقایسه مقدار گنادوتروپین مصرفی در دو گروه درمان و کنترل
- ۸- تعیین و مقایسه تعداد اووسیت‌ها و جنین‌ها، کیفیت جنین انتقال یافته در دو گروه درمان و کنترل
- ۹- تعیین و مقایسه میزان حاملگی شیمیایی و کلینیکال در دو گروه درمان و کنترل
- ۱۰- تعیین و مقایسه عارضه هیپراستیمولیشن در دو گروه درمان و کنترل

!

۱-۱۳- اهداف کاربردی

در صورتی که تعداد و کیفیت اووسیت و میزان حاملگی در گروه درمان بالاتر باشد می‌توان از آنتاگونیست GnRH به صورت کوتاه مدت به عنوان جایگزین روش آنتاگونیست به صورت ثابت استفاده کرد

۱-۱۴- فرضیات یا سوالات پژوهش با توجه به اهداف طرح (Hypothesis)

- ۱- متغیرهای دموگرافیک (سن، مدت ناباروری، علت ناباروری) در دو گروه یکسان است.
- ۲- سطح سرمی FSH و استرادیول در دو گروه یکسان است.
- ۳- تعداد فولیکول در دو گروه یکسان است.
- ۴- طول مدت درمان در یک سیکل در دو گروه یکسان است.
- ۵- قطر فولیکولها در دو گروه یکسان است.
- ۶- ضخامت اندومتر در دو گروه یکسان است.
- ۷- مقدار گنادوتروپین مصرفی در دو گروه یکسان است.
- ۸- تعداد اووسیت ها و جنین ها و کیفیت جنین انتقال یافته در دو گروه یکسان است.
- ۹- میزان حاملگی شیمیایی و کلینیکی در دو گروه یکسان است.
- ۱۰- عارضه هیپراستیمولیشن در دو گروه یکسان است.